

## Proteomika w nefrologii klinicznej

**Proteomika jest metodą określania jakościowego oraz ilościowego składu peptydowo-białkowego w określonym kompartmentie w danej sytuacji klinicznej. Określenie zmian jakościowych i/lub ilościowych w obrębie peptydomu i/lub proteomu pozwoli na scharakteryzowanie zestawów biomarkerów typowych dla konkretnych sytuacji. Mogą stać się one następnie narzędziem diagnostycznym lub prognostycznym. Celem pracy jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat zaawansowania badań proteomicznych w nefrologii oraz poglądów na możliwe ich zastosowanie w warunkach klinicznych.**

(NEFROL. DIAL. POL. 2010, 14, 31-33)

## Proteomics in the clinical nephrology

**Proteomics is the method of qualitative and quantitative determination of peptides and proteins present in the body compartment in particular clinical condition. Evaluation of qualitative and quantitative changes in the peptidome and/or proteome will enable determination of biomarker panels typical for particular situations. They may become the diagnostic or prognostic tool. The aim of our paper is to present the up-to-date knowledge concerning proteomic studies in nephrology and to review their possible clinical applications.**

(NEPHROL. DIAL. POL. 2010, 14, 31-33)

Postęp naukowy w zakresie technologii rozdzielania i identyfikacji białek oraz analizy informatycznej dużych ilości informacji doprowadził w ciągu ostatnich kilkunastu lat do powstania nowej gałęzi nauk przyrodniczych - proteomiki. Jest to metoda określania jakościowego oraz ilościowego składu peptydowo-białkowego (peptydomu/proteomu) w określonym kompartmentie, np. moczu, krwi, płynie mózgowo-rdzeniowym itp., w danej sytuacji klinicznej. Określenie zmian jakościowych i/lub ilościowych w obrębie peptydomu i/lub proteomu pozwoli na scharakteryzowanie zestawów biomarkerów typowych dla konkretnych sytuacji. Mogą stać się one następnie narzędziem diagnostycznym lub prognostycznym [17]. Z tego wynika duże zainteresowanie tą nową gałęzią nauki. Na całym świecie prowadzone są badania dotyczące możliwych jej zastosowań. Dotyczą one także nefrologii. Celem pracy jest przedstawienie aktualnego stanu wiedzy na temat zaawansowania badań proteomicznych w tej dziedzinie oraz poglądów na możliwe ich zastosowanie w warunkach klinicznych.

Jednym z doskonałych źródeł informacji klinicznych w nefrologii jest mocz. Materiał ten jest wykorzystywany w diagnostyce od setek lat. Można go uzyskać w sposób nieinwazyjny, w dużej ilości i w razie potrzeby powtarzać pobranie wielokrotnie. Pełniejsze niż dotychczas wykorzystanie białkomoczu w celach diagnostycznych wydaje się niezwykle interesujące. Ocenia się, że 49% białek moczu to białka rozpuszczalne, pochodzące z filtracji kłębuszkowej białek osocza lub wydzielane przez komórki nabłonka dróg moczowych (np. białko *Tamma-Hors-*

*falla*). Białka osadu moczu stanowią 48% wszystkich białek w nim zawartych. W osadzie moczu znajdują się złuszczone komórki wszystkich rodzajów nabłonka dróg moczowych, ich fragmenty oraz wałeczki. Trzy % białek moczu znajduje się w eksosomach, czyli małych pęcherzykach zawierających białka błonowe i wewnątrzkomórkowe, pochodzących z komórek nabłonkowych dróg moczowych oraz innych komórek [5].

Metodyka proteomiczna pozwala na rozdzielanie i wykrycie oraz ocenę ilości białek obecnych w danym materiale, dzięki czemu można dokładnie scharakteryzować peptydom lub proteom w danej sytuacji klinicznej. Rewolucjonizuje ona dotychczasowe podejście do badań naukowych, w których poszukiwano z góry określonych markerów na rzecz podejścia, w którym przeszukując cały peptydom lub proteom, złożony często z tysięcy elementów, poszukuje się odchyleń, których istnienia wcześniej być może nawet nie podejrzewano. Wyniki mają charakter panelu licznych biomarkerów o odmiennej niż w warunkach fizjologicznych ekspresji, w przeciwieństwie do podejścia tradycyjnego, gdzie starano się zidentyfikować jeden, optymalny parametr. Materiał po pobraniu jest poddawany wstępnej preparatyce celem przygotowania do dalszych etapów badań. W kolejnym etapie dokonuje się rozdzielania białek – można go wykonać przy pomocy kilku różnych metod, np. elektroforezy lub chromatografii cieczowej. Rozdzielone białka są następnie identyfikowane przy pomocy spektrometrii mas – kluczowego etapu badań. W ten sposób uzyskujemy informację o wszystkich białkach obecnych w danym materiale. Uzyska-

Mariusz NIEMCZYK

Leszek PAŃCZEK

Klinika Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych  
Warszawski Uniwersytet Medyczny  
Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Leszek Pańczek

**Słowa kluczowe:**

- proteomika
- choroby nerek
- diagnostyka

**Key words:**

- proteomics
- kidney diseases
- diagnostics

**Adres do korespondencji:**

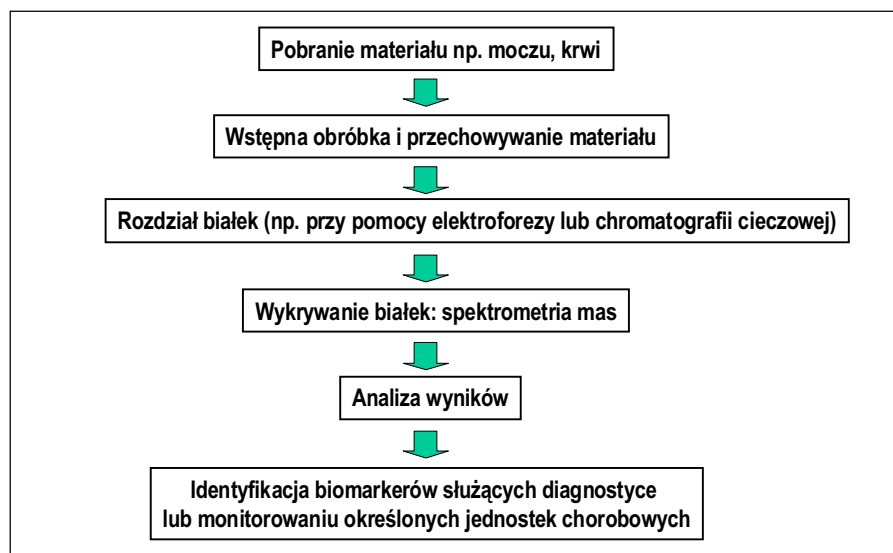
Dr n. med. Mariusz Niemczyk  
Klinika Immunologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych  
Warszawski Uniwersytet Medyczny  
02-006 Warszawa, ul. Nowogrodzka 59  
Tel.: 022 502 16 41; Fax. 022 502 21 27  
e-mail: mariuszniemczyk@wp.pl

ne dane wymagają następnie analizy informatycznej. Scharakteryzowane zestawy biomarkerów po weryfikacji w grupach osób chorych i zdrowych mogą następnie być wykorzystane w celu:

- postawienia rozpoznania,
- oceny zaawansowania i monitorowania postępu choroby,
- prognozowania skuteczności i monitorowania skuteczności leczenia,
- uzyskania informacji na temat patofizjologii danych jednostek chorobowych [17].

W stanach patologicznych liczne geny ulegają nadmiernej lub zmniejszonej ekspresji. Dotyczy to genów kodujących enzymy, białka biorące udział w reakcjach immunologicznych, a także wielu innych białek. Nie inaczej jest w przypadku chorób nerek. Poznano zestawy biomarkerów obecnych w moczu, krwi lub tkankach w przypadku ostrej niewydolności nerek i przewlekłej choroby nerek, mogących służyć do wczesnej diagnostyki czy monitorowania przebiegu choroby [21,24]. Uważa się, że badania proteomiczne moczu z dużą czułością i swoistością pozwalają na różnicowanie przyczyn kłębuszkowych zapaleń nerek, w tym ogniskowego szklawiejącego kłębuszkowego zapalenia nerek, nefropatii błoniastej, nefropatii toczniowej i cukrzycowej [38]. Z tego powodu diagnostykę proteomiczną określa się terminem „nieinwazyjnej” lub „ciekłej biopsji nerki” [7]. Scharakteryzowanie paneli biomarkerów o odpowiedniej czułości i swoistości pozwoli być może w wielu sytuacjach na rezygnację z wykonywania biopsji nerki, będącej zabiegiem inwazyjnym, mogącym dać zatem różnego rodzaju powikłania, oraz kosztownym. U pacjentów, u których konieczne będzie jednak wykonanie biopsji nerki analiza proteomiczna tkanki nerkowej pozwoli na rozszerzenie możliwości diagnostycznych zabiegu [33].

Dobrze przebadaną pod względem proteomicznym glomerulopatią jest nefropatia IgA. Panel peptydów obecnych w moczu pacjentów odróżnia ich od osób zdrowych, jak również od osób z innymi glomerulopatiami [17]. Proteomika moczu pozwala także prognozować skuteczność leczenia nefropatii IgA przy pomocy inhibitorów konwertazy angiotensyny [27]. Udowodniono, że proteomika moczu pozwala odróżnić osoby zdrowe od pacjentów z cukrzycą, a wśród tej drugiej grupy rozpoznać pacjentów z nefropatią, jak również tych, u których dojdzie do jej rozwoju w ciągu najbliższych 3 lat [28]. Tego typu informacje są niezwykle ważne, gdyż u osób zagrożonych tym powikłaniem pozwalają odpowiednio wcześniej zintensyfikować leczenie. Jednym z proponowanych markerów nefropatii cukrzycowej jest rozpuszczalna cadheryna E, której stężenie w moczu ulega zwiększeniu w tym stanie [16]. Zidentyfikowano również zestaw biomarkerów o zmienionej ekspresji w moczu osób z nefropatią toczniową [37]. Obecność markerów białkowych o charakterystycznej ekspresji stwierdzono w mysim modelu wyrodnienia wielotortbielowego nerek (*polycystic kidney disease*, PKD) [13]. Kistler i wsp. stwierdzili unikalny profil biomarkerów obecnych w moczu pacjentów z autosomalną dominującą postacią PKD (*autosomal dominant PKD*, ADPKD) na podsta-



Rycina 1  
Schemat metodologii badań proteomicznych.  
Scheme of methodology used in the proteomic studies.

wie badania grupy 41 pacjentów z tą chorobą [18]. Jest to odkrycie o doniosłym znaczeniu, gdyż może pomóc we wczesnym rozpoznaniu ADPKD – choroby, którą w ciągu najbliższych lat będzie można leczyć w sposób swoisty. Obecnie diagnostyka tej choroby opiera się na badaniach obrazowych, które jednak pozwalają postawić rozpoznanie dość późno, to znaczy w momencie, gdy doszło już do powstania torbieli nerkowych. Z kolei diagnostyka genetyczna ADPKD jest żmudna, kosztowna i nie zawsze pozwala postawić pewne rozpoznanie. Zidentyfikowano również grupę markerów, głównie immunoglobulin lub ich fragmentów, obecnych w moczu pacjentów z kamicą nerkową, lecz nieobecnych w moczu osób zdrowych [40]. Rozpoznanie kamicy nerkowej metodami obrazowymi nie stanowi trudności, ale cenna może być możliwość zidentyfikowania osób z grup ryzyka czy zagrożonych kamicą nawrotową, u których należałoby prowadzić bardziej intensywne leczenie. Proteomika moczu znajdzie także zastosowanie w nefrologii pediatrycznej – przy jej pomocy będzie można diagnozować np. zwężenie miedniczkowo-moczowodowe i zespół *Fanconiego* [9].

Kolejną grupą chorób, których diagnostykę będzie można najprawdopodobniej prowadzić w oparciu o badania proteomiczne moczu są nowotwory układu moczowego, w tym rak nerki [22,30,34,41] i rak pęcherza moczowego [14,35]. Połączenie badań proteomicznych z diagnostyką obrazową zwiększa czułość i swoistość różnicowania pomiędzy złośliwymi i łagodnymi guzami nerek [42]. Proteomiczna ocena pozwala także na ocenę stopnia zaawansowania raka nerki, a tym samym określenie rokowania [25]. Przy pomocy badań proteomicznych można również prognozować reakcję na określony rodzaj leczenia – stwierdzono, że duże osoczowe stężenia śródbłonkowego czynnika wzrostu (*vascular endothelial growth factor*, VEGF) oraz fibronektyny były związane ze złym rokowaniem i brakiem odpowiedzi na leczenie dużymi dawkami interleukiny 2 (IL-2) u pacjen-

tów z rakiem nerki i czerniakiem złośliwym [29]. Przewiduje się także możliwość rozpoznania raka gruczołu krokowego w oparciu o badanie proteomiczne moczu [12].

Technologia proteomiczna może umożliwić zidentyfikowanie nowych markerów toksycznego uszkodzenia nerek, jak i pomóc wyjaśnić mechanizmy tej toksyczności [4]. Przykładowo, w moczu szczurów z uszkodzeniem nerek wywołanym uranem stwierdzono zmienioną ekspresję 14 białek [20]. Proteomiczna analiza moczu pozwala także wyodrębnić grupę narażoną na nefropatię kontrastową [6].

Proteomika dotarcza ważnych informacji prognostycznych. Profil cytokin we krwi pacjentów hemodializowanych, określony przy pomocy badań proteomicznych, pozwala prognozować ryzyko zgonu z przyczyn pozasercowych [3]. Proteomiczna ocena płynu dializacyjnego u osób dializowanych otrzewnowo daje informacje na temat zagrożenia dializacyjnym zapaleniem otrzewnej [19].

Kolejną dziedziną, która może wykorzystać badania proteomiczne, jest transplantologia. W wielu sytuacjach klinicznych będzie można zapewne zastąpić biopsję przeszczepu „biopsją ciętkłą”. Dzięki proteomicznym badaniom moczu biorców przeszczepu nerki zidentyfikowano marker ostrej martwicy cewek, jakim jest beta-2-mikroglobulina [32]. Proteomika moczu pozwala na potwierdzenie rozpoznania ostrego odrzucania [11,23,31] oraz przewlekłej nefropatii alloprzeszczepu bez konieczności wykonania jego biopsji [26]. Może ona także wspomóc diagnostykę nefropatii wywołanej przez wirusa BK – obecnie rozpoznanie wymaga wykonania biopsji narządu [15]. Badanie proteomiczne surowicy szczurów leczonych cyklosporyną A pozwala wykryć biomarkery świadczące o nefrotoksyczności leku [36]. Możliwe, że techniki proteomiczne pozwolą w przyszłości na selekcję narządów do przeszczepów – na podstawie badania wycinków nerek będzie można zapewne określić wiek biologiczny narządu [2,10]. Markery starzenia nerek stwierdza się również w

moczu. Stwierdzono, że są to białka zbliżone do tych obserwowanych u pacjentów z przewlekłą chorobą nerek [44]. To sygnalizuje nam kolejne wyzwanie stojące przed proteomiką. Panel peptydowo-białkowy moczu lub surowicy jest najpewniej zależny od poci, wieku i innych parametrów demograficznych. Także czynniki środowiskowe, jak np. palenie tytoniu, modyfikują proteom [1]. Zmienność ta będzie zapewne niekorzystnie wpływała na czułość i swoistość biomarkerów typowych dla stanów patologicznych. Konieczne będzie opracowanie takich paneli, które będą cechowały się jak największą niezależnością od tego typu zmiennych.

Warto wspomnieć, że zastosowanie badań proteomicznych moczu znajdzie zastosowanie także w innych specjalnościach klinicznych. Przykładowo, w moczu znajdują się biomarkery stanu przedzrutowego [8]. Proteomika moczu pozwala stwierdzić obecność choroby niedokrwiennej serca i być może będzie przydatna w monitorowaniu skuteczności interwencji leczniczych [43].

Zainteresowanie proteomiką doprowadziło do uruchomienia w 2008 roku projektu EUROKUP (*European Urine and Kidney Proteomics*), którego celem jest identyfikacja i weryfikacja paneli markerów chorób układu moczowego i nerek w proteomicznej analizie białek moczu [39]. Bierze w nim udział 70 ośrodków w Europie. W Polsce projekt jest koordynowany przez Instytut Biochemii i Biofizyki Polskiej Akademii Nauk. Badania proteomiczne są oczywiście prowadzone także na innych kontynentach. Można się zatem spodziewać, że najbliższe lata przyniosą dużą ilość kolejnych informacji na temat proteomiki moczu i pomysłów na jej zastosowanie w warunkach klinicznych. Należy mieć nadzieję, że potwierdzona zostanie użyteczność wyników badań eksperymentalnych i przybliżymy się do możliwości praktycznego ich wykorzystania.

Badania proteomiczne prowadzone w nefrologii mają charakter wielokierunkowy i są bardzo obiecujące. Na razie metodologia jest skomplikowana i kosztowna. Przed wprowadzeniem do użytku klinicznego będzie wymagała optymalizacji. Konieczne będzie także wypracowanie standardów pobierania materiału do badań oraz dobrej współpracy pomiędzy klinicystami a osobami zajmującymi się analityką i analizą danych. Ponadto, wyniki uzyskane w badaniach eksperymentalnych będą wymagały weryfikacji na dużych grupach pacjentów i osób zdrowych celem określenia ich czułości i swoistości. Niemniej jednak należy się spodziewać, że w przyszłości diagnostyka oparta o technologię proteomiczną będzie ważnym narzędziem w rękach klinicystów.

#### Piśmiennictwo

1. Airoldi L., Magagnotti C., Iannuzzi A.R. et al.: Effects of cigarette smoking on the human urinary proteome. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2009, 381, 397.
2. Amelina H., Cristobal S.: Proteomic study on gender differences in aging kidney of mice. *Proteome Sci.* 2009, 7, 16.
3. Badiou S., Cristol J.P., Jaussent I. et al.: Fine-tuning of the prediction of mortality in hemodialysis pa-

tients by use of cytokine proteomic determination. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008, 3, 423.

4. Bandara L.R., Kelly M.D., Lock E.A., Kennedy S.: A correlation between a proteomic evaluation and conventional measurements in the assessment of renal proximal tubular toxicity. *Toxicol. Sci.* 2003, 73, 195.
5. Barratt J., Topham P.: Urine proteomics: the present and future of measuring urinary protein components in disease. *C.M.A.J.* 2007, 177, 361.
6. Bennett M.R., Ravipati N., Ross G. et al.: Using proteomics to identify preprocedural risk factors for contrast induced nephropathy. *Proteomics Clin. Appl.* 2008, 2, 1058.
7. Bramham K., Mistry H.D., Poston L. et al.: The non-invasive biopsy - will urinary proteomics make the renal tissue biopsy redundant? *Q.J.M.* 2009, 102, 523.
8. Buhimschi I.A., Zhao G., Funai E.F. et al.: Proteomic profiling of urine identifies specific fragments of SERPINA1 and albumin as biomarkers of pre-eclampsia. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2008, 199, 551.e1.
9. Caubet C., Lacroix C., Decramer S. et al.: Advances in urinary proteome analysis and biomarker discovery in pediatric renal disease. *Pediatr. Nephrol.* 2010, 25, 27.
10. Chakravarti B., Seshi B., Ratanaprayul W. et al.: Proteome profiling of aging in mouse models: differential expression of proteins involved in metabolism, transport, and stress response in kidney. *Proteomics.* 2009, 9, 580.
11. Clarke W., Silverman B.C., Zhang Z. et al.: Characterization of renal allograft rejection by urinary proteomic analysis. *Ann. Surg.* 2003, 237, 660.
12. Downes M.R., Byrne J.C., Pennington S.R. et al.: Urinary markers for prostate cancer. *B.J.U. Int.* 2007, 99, 263.
13. Han C.L., Chien C.W., Chen W.C. et al.: A multiplexed quantitative strategy for membrane proteomics: opportunities for mining therapeutic targets for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Mol. Cell. Proteomics.* 2008, 7, 1983.
14. Iwaki H., Kageyama S., Isono T. et al.: Diagnostic potential in bladder cancer of a panel of tumor markers (calreticulin, gamma-synuclein, and catechol-O-methyltransferase) identified by proteomic analysis. *Cancer Sci.* 2004, 95, 955.
15. Jahnukainen T., Malehorn D., Sun M. et al.: Proteomic analysis of urine in kidney transplant patients with BK virus nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006, 17, 3248.
16. Jiang H., Guan G., Zhang R. et al.: Identification of urinary soluble E-cadherin as a novel biomarker for diabetic nephropathy. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2009, 25, 232.
17. Julian B.A., Wittke S., Haubitz M. et al.: Urinary biomarkers of IgA nephropathy and other IgA-associated renal diseases. *World J. Urol.* 2007, 25, 467.
18. Kistler A.D., Mischak H., Poster D. et al.: Identification of a unique urinary biomarker profile in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int.* 2009, 76, 89.
19. Lin W.T., Tsai C.C., Chen C.Y. et al.: Proteomic analysis of peritoneal dialysate fluid in patients with dialysis-related peritonitis. *Ren. Fail.* 2008, 30, 772.
20. Malard V., Gaillard J.C., Bérenguer F. et al.: Urine proteomic profiling of uranium nephrotoxicity. *Biochim. Biophys. Acta.* 2009, 1794, 882.
21. Nguyen M.T., Ross G.F., Dent C.L., Devarajan P.: Early prediction of acute renal injury using urinary proteomics. *Am. J. Nephrol.* 2005, 25, 318.
22. Okamura N., Masuda T., Gotoh A. et al.: Quantitative proteomic analysis to discover potential diagnostic markers and therapeutic targets in human renal cell carcinoma. *Proteomics.* 2008, 8, 3194.
23. O'Riordan E., Orlova T.N., Mei J.J. et al.: Bioinformatic analysis of the urine proteome of acute allograft rejection. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004, 15, 3240.
24. Perco P., Pleban C., Kainz A. et al.: Protein biomarkers associated with acute renal failure and

chronic kidney disease. *Eur. J. Clin. Invest.* 2006, 36, 753.

25. Perroud B., Ishimaru T., Borowsky A.D., Weiss R.H.: Grade-dependent proteomics characterization of kidney cancer. *Mol. Cell. Proteomics.* 2009, 8, 971.
26. Quintana L.F., Solé-Gonzalez A., Kalko S.G. et al.: Urine proteomics to detect biomarkers for chronic allograft dysfunction. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009, 20, 428.
27. Rocchetti M.T., Centra M., Papale M. et al.: Urine protein profile of IgA nephropathy patients may predict the response to ACE-inhibitor therapy. *Proteomics.* 2008, 8, 206.
28. Rossing K., Mischak H., Dakna M. et al.: Urinary proteomics in diabetes and CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008, 19, 1283.
29. Sabatino M., Kim-Schulze S., Panelli M.C. et al.: Serum vascular endothelial growth factor and fibronectin predict clinical response to high-dose interleukin-2 therapy. *J. Clin. Oncol.* 2009, 27, 2645.
30. Sarkissian G., Fergelot P., Lamy P.J. et al.: Identification of pro-MMP-7 as a serum marker for renal cell carcinoma by use of proteomic analysis. *Clin. Chem.* 2008, 54, 574.
31. Schaub S., Rush D., Wilkins J. et al.: Proteomic-based detection of urine proteins associated with acute renal allograft rejection. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004, 15, 219.
32. Schaub S., Wilkins J.A., Antonovici M. et al.: Proteomic-based identification of cleaved urinary beta2-microglobulin as a potential marker for acute tubular injury in renal allografts. *Am. J. Transplant.* 2005, 5, 729.
33. Sedor J.R.: Tissue proteomics: a new investigative tool for renal biopsy analysis. *Kidney Int.* 2009, 75, 876.
34. Seliger B., Dressler S.P., Wang E. et al.: Combined analysis of transcriptome and proteome data as a tool for the identification of candidate biomarkers in renal cell carcinoma. *Proteomics.* 2009, 9, 1567.
35. Shirodkar S.P., Lokeshwar V.B.: Potential new urinary markers in the early detection of bladder cancer. *Curr. Opin. Urol.* 2009, 19, 488.
36. Shu Z., Pu X., Xiong X. et al.: Differential expression of plasma proteins in cyclosporine A-induced rat acute nephrotoxicity. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2009, 73, 592.
37. Suzuki M., Ross G.F., Wiers K. et al.: Identification of a urinary proteomic signature for lupus nephritis in children. *Pediatr. Nephrol.* 2007, 22, 2047.
38. Varghese S.A., Powell T.B., Budisavljevic M.N. et al.: Urine biomarkers predict the cause of glomerular disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007, 18, 913.
39. Vlahou A., Charonis A., Benigni A.: Report on the first combined working group and management committee meeting of EuroKUP (Urine and Kidney Proteomics cost action). *J. Proteomics.* 2009, 71, 682.
40. Wai-Hoe L., Wing-Seng L., Ismail Z., Lay-Harn G.: Proteomics and Detection of Uromodulin in First-time Renal Calculi Patients and Recurrent Renal Calculi Patients. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2009, 159, 221.
41. Wu D.L., Zhang W.H., Wang W.J. et al.: Proteomic evaluation of urine from renal cell carcinoma using SELDI-TOF-MS and tree analysis pattern. *Technol. Cancer Res. Treat.* 2008, 7, 155.
42. Xu G., Xiang C.Q., Lu Y. et al.: Proteomic analysis in combination with CT diagnosis to distinguish renal cell carcinoma from renal benign masses. *Zhonghua. Yi. Xue. Za. Zhi.* 2008, 88, 858.
43. Zimmerli L.U., Schiffer E., Zürbig P. et al.: Urinary proteomic biomarkers in coronary artery disease. *Mol. Cell. Proteomics.* 2008, 7, 290.
44. Zürbig P., Decramer S., Dakna M. et al.: The human urinary proteome reveals high similarity between kidney aging and chronic kidney disease. *Proteomics.* 2009, 9, 2108.